

Zusammenfassung

Reflexionen zur Substanz P-Forschung

Peter Oehme und Karl Hecht

Die Veröffentlichung basiert auf einem Vortrag zu dem Neuropeptid Substanz P auf dem Kolloquium der Leibniz-Sozietät der Wissenschaften zu Berlin am 12. Oktober 2017 im Schloss Biesdorf (Berlin). Die Arbeit gibt eine Übersicht über ausgewählte Arbeiten der Gruppen beider Autoren und ihrer wichtigsten Kooperationspartner.

Die Übersichtsarbeit umfasst folgendes Spektrum: 1. Wirkung von Substanz P (SP) auf die Schmerzschwelle und stressbedingte Störungen, 2. Wirkung von SP auf das Nervenfaserverwachstum und auf Mastzellen, 3. Interaktion von SP mit dem aminergen System und dem Opioidpeptidsystem, 4. Arbeiten zur Vorbereitung einer klinischen Nutzung von Substanz P insbesondere für stressbedingte Schlafstörungen, Hypertonie und Asthma bronchiale, 5. Gedanken zum gegenwärtigen Stand der SP-Forschung und zu ihrer weiteren Entwicklung.

Das Ziel der vorgelegten Übersichtsarbeit ist es, die Ergebnisse einer langjährigen Arbeit auf diesem Gebiet in die weiter intensiv laufende Substanz P-Forschung – auch zur Rolle von SP im Stressgeschehen - einzubringen.

Abstract

Reflections on Substance P Research

Peter Oehme and Karl Hecht

The publication is based on the plenary lecture on the neuropeptide Substance P at the Colloquium of the Leibniz Society of Sciences in Berlin, 12 October 2017, in Schloss Biesdorf.

The publication reviews the selected works of both authors and their most important partners. The review includes the following spectrum: 1. The effect of Substance P (SP) on the pain threshold and stress related disturbances. 2. The effect of SP on nerve fibre growth and on mast cells. 3. Interaction of SP with the aminergic system and the opioid peptide system. 4. The work involved in preparing clinical use of Substance P, particularly for stress and sleep disturbances, hypertension and bronchial asthma. 5. Thoughts about current status of SP research and its further development.

The goal of the presented review is to introduce the results of the extensive work done in this field of ongoing Substance P research — and the role SP plays in the occurrence of stress.

Reflektionen zur Substanz P-Forschung

Peter Oehme und Karl Hecht

Der Beginn der Substanz P-Forschung geht auf die Jahre 1930/1931 zurück. Ulf Svante von Euler war zu dieser Zeit „postgraduate student“ in Henry Dale’s Laboratorium in London. Dort beschäftigte man sich auch mit der Freisetzung von Azetylcholin aus dem Intestinum nach Stimulation des Nervus Vagus. Bei solchen Untersuchungen fand von Euler zusammen mit John Gaddum, dem damaligen „senior assistent“, eine Fraktion, die sich in den Eigenschaften deutlich von Azetylcholin unterschied (1). Sie reinigten diese Fraktion und gewannen daraus ein trockenes Puder (powder). Dieses nannten sie Präparation P. Daraus folgte dann der Name Substanz P (SP). Mit diesem Substanz P-powder wurden in der Folgezeit zahlreiche Untersuchungen durchgeführt.

1971 gab es einen zweiten Meilenstein in der Substanz P-Forschung. Die Gruppe von Susan E. Leeman von der Harvard medical school in Boston publizierte die Aminosäuresequenz von Substanz P (2). SP erwies sich als ein Undekapeptid (Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-MetNH₂). Dieses Undekapeptid hatte im C-terminalen Pentapeptidbereich große Ähnlichkeit mit dem von Ersparmer in Moschuspolyphen (*Eledona moschata*) entdeckten Peptid Eledoisin (3). SP zeigte auch ähnliche pharmakologische Eigenschaften wie dieses Kaltblüterpeptid¹. Mit Eledoisin und anderen Kaltblüterpeptiden wurde in der Chemie und in der Pharmakologie der beiden Jung’schen Institute seit Anfang der 60er Jahre gearbeitet und dazu publiziert (4,5).

1. Aufnahme in die internationale Substanz P- „Gemeinde“

1976 im Jahr der Gründung des Institutes für Wirkstoffforschung (IWF) erhielt der Erstautor eine Einladung vom o. g. Entdecker von Substanz P. Nobelpreisträger Ulf S. von Euler lud mich zu dem Nobel Symposium 37 über Substanz P nach Stockholm ein. Auf dem Symposium war alles vertreten, was auf diesem Gebiet Rang und Namen hatte. Die Vorträge umfassten Arbeiten zur Isolierung von Substanz P, zur Strukturaufklärung, zu Struktur und

¹ Substanz P, Eledoisin und weitere Peptide wurden dann zur Gruppe der Tachykinine zusammengefasst. Der Name Tachykinine folgte aus der von allen Peptiden dieser Gruppe am glatten Muskel auslösbaeren schnellen (tachos=schnell, griech.) Kontraktion.

Konformation, zu Nachweismethoden, zur Lokalisierung im Nervensystem und anderen Geweben, zur Rolle in primär sensorischen Neuronen, zur Bedeutung für das Schmerzgeschehen u. a.

Von uns wurden in Stockholm Ergebnisse zu Struktur-Wirkungs-Betrachtungen an SP und anderen Tachykininen vorgetragen und zwei Hypothesen vertreten (6). Zum einen, dass im SP-Molekül unterschiedliche Informationen in verschiedenen Teilen des Moleküls verschlüsselt sind. Zum anderen, dass SP neben der direkten Wirkung am glatten Muskel auch indirekte Effekte über die Modulation anderer Transmittersubstanzen ausübt. Diese Hypothesen wurden in den Folgejahren die „Führungsgrößen“ für unsere Arbeiten.



*Der Entdecker von Substanz P Nobelpreisträger Ulf Svante von Euler
gemeinsam mit Peter Oehme 1976 auf dem Nobel Symposium 37 zu Substanz P in Stockholm*

Die Ergebnisse wurden gut aufgenommen. Das hatte zur Folge, dass wir zu den folgenden Substanz P-Symposien eingeladen wurden und ich bald zu dem „organizing comittee“ dieser bekannten internationalen „Substance P-meetings“ gehörte.

2. Wirkung von Substanz P auf die Schmerzschwelle und auf stressbedingte Störungen

1975 lag der Beginn der langjährigen effektiven Zusammenarbeit des IWF mit der Gruppe von Karl Hecht – eine ganz wesentliche Grundlage für den späteren raschen Fortschritt. Damals war Karl Hecht noch im Zentralinstitut für Herz-Kreislauf-Regulationsforschung der Akademie. Die ersten Ergebnisse unserer Zusammenarbeit mit Substanz P und anderen Tachykininen waren enttäuschend. An intakten Versuchstieren zeigten die untersuchten Peptide keine Wirkung. Doch dann folgten Untersuchungen mit chronisch gestressten Versuchstieren. Hier zeigten sich interessante Effekte. Der durch Immobilisationsstress erhöhte Blutdruck und die durch chronischen Stress gestörten erlernten Vermeidungsreaktionen wurden weitgehend normalisiert (7).

Ausgehend hiervon wurde von Karl Hecht, der Gruppe von Michael Airapetanz aus dem Moskauer Akademieinstitut für höhere Nerventätigkeit und Neurophysiologie und dem IWF ein verkürztes Substanz P-Analogon (Lys-Phe-Ile-Gly-Leu-MetNH₂) auf das durch Immobilisationsstress gestörte Schlafverhalten untersucht. Ein überzeugendes Ergebnis: Die durch chronischen Stress gestörte Delta-Aktivität ebenso wie die gestörten paradoxen Schlafperioden wurden durch das SP-Analogon weitgehend normalisiert (8).

Im IWF, zusammen mit Evelyn Morgenstern in dem von Erhard Göres geleiteten Institut für pharmakologische Forschung (IPhF), liefen parallel Untersuchungen zur Wirkung von Substanz P auf die Schmerzschwelle von Mäusen. Dabei gab es das erstaunliche Ergebnis, dass die Wirkung des Peptides weder eine Analgesie noch eine Algesie war. Die Wirkung hing von der individuellen Ausgangslage der Tiere ab; d. h. SP erhöhte die Schmerzschwelle nur bei Mäusen mit niedriger Ausgangsschmerzschwelle und erniedrigte diese jedoch bei Mäusen mit hoher Ausgangsschmerzschwelle. Der SP-Effekt war demzufolge eine Modulation der Schmerzschwelle im Sinne einer „Normalisierung“. 1979 reichten wir die Ergebnisse zur Veröffentlichung in der bekannten Zeitschrift Science ein, wo sie 1980 erschien (9). Wir erklärten diesen dualen Effekt von SP damit, dass im SP-Molekül verschiedenartige Informationen verschlüsselt sind. In späteren Arbeiten konnten wir nachweisen, dass der N-Terminus des Peptids für die hyperalgetische Komponente und der C-Terminus für analgetische Wirkkomponente verantwortlich ist (10).

Gemeinsam mit Karl Hecht stellten wir die Gesamtheit dieser neuartigen Befunde zur Wirkung von Substanz P auf stressbedingte Störungen und auf die Schmerzschwelle 1979 auf

dem IBRO²-Symposium über „Neuropeptide und Neural transmission“ in Jablonna, Polen vor und definierten Substanz P als ein regulatorisches Peptid = **Regulide**. Die Funktion eines solchen „Regulide“ sahen wir in der Anpassung, Adaptation an verschiedenartige stressbedingte Störungen und in der Wiederherstellung des Normalzustandes: d. h. im Sinne von defense und repair (11).

3. Wirkung von Substanz P auf das Nervenfasernwachstum und auf Mastzellen

Eine weitere Richtung der Substanz P-Forschung im IWF betraf die Wirkung von Substanz P auf die Nervenfasernregeneration in der Gewebekultur. In Zusammenarbeit mit dem Anatomischen Institut der Charité fanden wir 1980 an Explantatkulturen des Ganglion trigeminale von Hühnerembryonen und des Hippocampus embryonaler Ratten, dass SP-Zugaben zum Erhaltungs- bzw. Wachstumsmedium konzentrationsabhängig den Nervenfasernwachstumsindex erhöht (12). In Folgearbeiten konnten wir nachweisen, dass die Stimulation des Nervenfasernwachstums dem N-Terminus von SP zugeordnet werden kann. Diese Arbeiten erfolgten vor dem Hintergrund, dass durch das Enzym Dipeptidylpeptidase IV (DP IV) diese N-terminale Dipeptide aus dem SP-Undekapeptid freigesetzt werden können (13). Die Wirkung dieser N-terminalen SP-Fragmente auf das Zellwachstum wurden deshalb auf das N-terminale Dipeptid SP₃₋₄ (und Derivate) fokussiert. Das führte zu dem Patent „Process für manufacturing preparations promoting wound healing, and such preparations (EP 0165492 A2).

Für diese Dipeptide wurden auch weitere Felder interessant. So wurde in Zusammenarbeit von Wolf-Eckehard Siems aus dem IWF mit Oleg Gomazkov, damals im Institut für allgemeine Pathologie und pathologische Physiologie der medizinischen Akademie der UdSSR in Moskau, gefunden, dass N-terminale SP-Teilsequenzen und davon ausgehende Derivate wirksame Inhibitoren der Angiotensin-Converting-Enzym-Aktivität sind (14).

Im gleichen Zeitraum wurde mit Untersuchungen zur Wirkung von Substanz P auf Mastzellen begonnen. Das interessierte deshalb, weil bekannt war, dass SP aus Peritonealmastzellen

² IBRO=International Brain Research Organization

Histamin freisetzen kann und dass bei antidromer Stimulation aus sensorischen Nerven SP freigesetzt wird, die dann auf Mastzellen wirkt.

Für die Bearbeitung dieser Frage kooperierten wir mit dem pharmakologischen Institut des University College in London (UCL). Den Startschuss hierzu gab eine Einladung für den Erstautor Anfang der 80er Jahre. Gastgeber war das pharmakologische Institut am UCL. Begonnen wurden dort mit Selbstversuchen von John Foreman sowie Chris Jordan (beide UCL) und mir. Das betraf Injektionen von Substanz P, SP-Fragmenten und Analoga in unsere Unterarme. Später kamen hierzu freiwillige Probanden aus dem UCL. Erwartungsgemäß kam es bei diesen Versuchen zu einer dosisabhängigen Rötung und Schwellung an den Unterarmen. Diese war durch Antihistaminika zu unterdrücken. N- ebenso wie C-terminale SP-Fragmente waren unwirksam. Das bedeutete, dass für die Histaminfreisetzung aus Mastzellen das gesamte SP-Molekül notwendig ist (15). An isolierten Peritonealmastzellen zeigten sich identische Struktur-Wirkungs-Beziehungen (16). Wir diskutierten diese Befunde als bedeutsam für das Verständnis der Rolle von Substanz P für die Pathophysiologie entzündlicher Prozesse in verschiedenen Geweben.

Aus dieser Kooperation zwischen dem IWF und den Pharmakologen aus dem UCL erwuchs im August 1984 die gemeinsame Durchführung eines Satellitensymposiums in Verbindung mit dem 9. Internationalen Pharmakologenkongress in London. Das Symposiumsthema war „Substance P – metabolism and biological actions“. Auf diesem Symposium wurde der rasante Fortschritt in der internationalen Substanz-Forschung deutlich. Das betraf die Aufklärung der Präkursoren für SP und der anderen Tachykinine, die Identifizierung verschiedener Tachykininrezeptoren, den SP-Metabolismus, ebenso wie die Entwicklung von empfindlichen Nachweismethoden und genauere Kenntnisse zur Lokalisierung. Um diese Fortschritte zu ordnen, wurde unter Vorsitz des Grazer Pharmakologen Fred Lembeck auf dem Symposium eine Nomenklaturkommission etabliert. Diese erarbeiteten Vorschläge für die Terminologie der verschiedenen Tachykinine und verwandter Peptide. Die Vorschläge sowie die Ergebnisse dieses Symposiums sind in der von Chris Jordan und Peter Oehme herausgegebenen Monografie mit dem Titel “ Substanz P – metabolism and biological actions“ zusammengefasst (17).

Schwerpunkte der Beiträge – gemeinsam mit Karl Hecht und anderen Kooperationspartnern – betrafen die Wirkungen von SP und SP-Fragmenten auf stressinduzierte Störungen des

Verhaltens, des Blutdrucks und des Schlafes, sowie deren Wirkung auf das Angiotensin-Converting-Enzym (ACE). Außerdem ging es um die Beziehungen zwischen Substanz P, dem Stressgeschehen und dem Katecholaminmetabolismus (18-20).

Bei aller positiver Resonanz auf unsere Beiträge und den Erfolg des gemeinsamen UCL-IWF-Substanz P-Symposiums, zeigte der internationale Vergleich immer deutlicher, dass wir methodisch bei den modernen Entwicklungen, insbesondere in der Molekularbiologie in einen kaum aufholbaren Rückstand geraten waren. Das galt insbesondere für die Erforschung der Substanz P-Rezeptoren.

Wir kompensierten dieses Defizit deshalb durch eine enge Verbindung mit den klinischen Forschungen zu SP und neuen konzeptionellen Ansätzen.

4. Interaktion von Substanz P mit dem aminergen System

Bereits 1976 auf dem Stockholmer Substanz P-Symposium hatte der Erstautor für die von ihm diskutierte modulierende SP-Wirkung das Katecholaminsystem als target favorisiert. Dafür sprachen auch die SP-Effekte bei stressbedingten Störungen. Deshalb untersuchten wir die Interaktion von Substanz P mit diesem System. Als Modell hierfür wählten wir die Nebenniere, genauer das Nebennierenmark. Dieses Organ hat bekanntlich eine zentrale Stellung im Stressgeschehen. Mittels immunhistochemischer Technik konnte zusammen mit dem Anatomischen Institut der Charité „Substanz P-like immunoreactivity“ (SPLIR) in zellulären Elementen und in Fasern des Nebennierenmarks dargestellt werden (21).

Ausführlich wurde in der Gruppe des Erstautors von Karen Nieber die stimulierte Noradrenalinfreisetzung an Nebennierenschnitten untersucht. Da in den Nebennierenschnitten neben den chromaffinen Zellen auch Endigungen des N- splanchnicus enthalten sind, aus denen Azylocholin freigesetzt wird, welches die Katecholaminausschüttung auslöst, wurde neben der Noradrenalinfreisetzung auch die elektrisch induzierte ³H-Azetylcholinfreisetzung untersucht. Substanz P ebenso wie das N-terminale Fragment SP₁₋₄ hemmten dosisabhängig sowohl die elektrisch induzierte Azetylcholinfreisetzung wie die nikotinerger induzierte Freisetzung von Noradrenalin (22). Das sprach für einen prae- und einen postsynaptischen Angriff von Substanz P. Für den postsynaptischen Angriff diskutierten wir eine Modulation des nikotinergeren Rezeptors, möglicherweise durch Eingriff in den Inositolphospholipidmetabolismus (23). Mit diesen Modelluntersuchungen stimmten die

gemeinsam mit der Gruppe von Karl Hecht erhobenen Befunde überein, dass SP den durch Stress ausgelösten Anstieg des Plasmakatecholaminspiegels von Ratten verhindern kann (24).

Auf dem vorangehend erwähnten internationalen Pharmakologenkongress 1984 in London kam es auch zu einem persönlichen Kontakt mit dem Melbourn Biochemiker Bruce Livett. Bruce war einer der Pioniere in der Kultivierung und Untersuchung chromaffiner Zellen. Durch diesen Kontakt wurde der Grundstein für eine langjährige freundschaftliche Zusammenarbeit der Melbourn Gruppe mit dem IWF gelegt. Diese wurde auch nach Gründung des Leibniz-Forschungsinstitutes für Molekulare Pharmakologie (FMP) weitergeführt und mit wechselseitigen Arbeitsaufenthalten der Mitarbeiter ausgebaut.

In umfangreichen Untersuchungen mit N- und C-terminalen SP-Fragmenten an kultivierten chromaffinen Zellen der Rindernebenniere konnten wir, ausgehend von früheren Ergebnissen von Bruce (25) und uns, nachweisen, dass Substanz P postsynaptisch an den chromaffinen Zellen zwei Effekte hat. Zum einen hemmt es die cholinerg induzierte Katecholaminsekretion – moduliert also die Freisetzung. Zum anderen wirkt es der nikotininduzierten Desensibilisierung der Katecholaminfreisetzung entgegen – verhindert also eine Erschöpfung der Freisetzung (26). Dabei werden wahrscheinlich die Hemmwirkung auf die Freisetzung und der Schutz gegen die Desensibilisierung über unabhängige Mechanismen vermittelt.

In späteren Untersuchungen trennten wir die kultivierten chromaffinen Zellen aus Rindernebennierenmark in eine vorwiegend Adrenalin- und in eine vorwiegend Noradrenalinproduzierende Fraktion (27). Stimuliert wurde die Freisetzung der beiden Amine in beiden Fraktionen durch Nikotin und den Nikotinagonisten Epibatidin. Substanz P hemmte erwartungsgemäß die durch beide Stimuli freigesetzten Katecholamine. Dabei wurde die Noradrenalinfreisetzung stärker gehemmt als die Adrenalinfreisetzung. In vergleichenden Untersuchungen mit N- und C-terminalen SP-Fragmenten wurde gefunden, dass für den Hemmeffekt auf die stimulierte Katecholaminsekretion in beiden Fällen das gesamte SP-Molekül nötig ist. Als Angriffspunkt wurde eine Modulation des nikotinergeren Rezeptor über einen benachbarten Neurokinin 1-Rezeptor diskutiert.

Dass diese Effekte auch für die in vivo-Wirkung von SP auf Stressvorgänge bedeutsam sein könnte, dafür sprachen unsere Ergebnisse, dass unter Stressbedingungen die endogene „Substance-like immunoreactivity“ im Nebennierenmark erniedrigt ist (28) und das SP an

Nebennierenschnitten gestresster Ratte - unter in vivo-(und in vitro-) Applikation - die durch Stress induzierte Aktivierung der Noradrenalinsekretion normalisiert (29). Dadurch könnte Substanz P über eine Homöostasesicherung des aminergen Systems zur Bewältigung von Stresssituationen beitragen (30).

5. Interaktion von Substanz P mit dem Opioidpeptidsystem

Da neben dem aminergen System auch das endogene Opioidpeptidsystem am Stressverlauf beteiligt ist, führten wir im IWF auch dazu Untersuchungen durch. Seit Anfang der 80er Jahre erschienen hierzu Arbeiten aus unserer Gruppe (31, 32). Diese Arbeiten mündeten in der Arbeitshypothese, dass Stress zu einer Art Abhängigkeit von den körpereigenen Opioidpeptiden führt und dass es sich dabei um einen fundamentalen Prozess in einer gestörten Adaptation handelt. Deren Relevanz wurde später für die stressbedingte Alkoholmotivation untersucht. 1990/91 nicht abgeschlossene Untersuchungen zeigten, dass eine Korrelation zwischen der Alkoholpräferenz von Ratten und ihrer SP-Konzentration im Hypothalamus und Nebennierenmark vorliegt und dass eine systemische SP-Applikation die durch Stress erhöhte Alkoholpräferenz bei Ratten reduziert. Es war geplant diese Richtung auszubauen und zu erweitern. Hierfür existierten molekular- und zellbiologische Vorarbeiten. Diese vorgesehenen Arbeiten waren eingebunden in ein Konzept für einem Berliner Suchtforschungsverbund, welches gemeinsam mit Helmut Coper, dem damaligen Direktor des Institutes für Neuropsychopharmakologie der Freien Universität, erarbeitet wurde (33). Diese Entwicklung konnte nach 1991 nicht fortgesetzt werden.

6. Vorbereitung einer klinischen Nutzung der Substanz P-Ergebnisse

Bei unseren chemischen, physikochemischen, pharmakologischen, pathophysiologischen und biochemischen Arbeiten zu Substanz P und anderen Peptiden war natürlich auch an eine klinische Relevanz angedacht. Für diese Zielrichtung war Karl Hecht mit seiner Abteilung für Neuropathophysiologie (später Institut für pathologische Physiologie) mit dem angeschlossenen Schlaflabor in der Charité der Dreh- und Angelpunkt. Dazu kamen noch die zahlreichen klinischen und klinisch-pharmakologischen Kooperationspartner der Hecht'schen Gruppe. Diese Zusammenarbeit war nicht nur die klinische Prüfung essentiell, sondern befruchtete auch die biomedizinisch/klinische Schlafforschung. Davon zeugen u. a. zahlreiche Promotionsarbeiten, die in diese Zeit entstanden.

Schwerpunkt dieser Arbeiten war die **Wirkung von Substanz P auf stressbedingte Schlafstörungen**. Als Vorarbeiten hierfür gab es die bereits erwähnten umfangreichen tierexperimentellen Befunde. Hinzu kamen vergleichende Untersuchungen von SP mit dem bekannten Delta-Schlaf-Induzierenden-Peptid (DSIP). Dabei zeigte SP bei stressinduzierten chronischen Schlafstörungen der Ratte auf äquimolarer Basis eine stärkere Wirksamkeit als DSIP (34), Das betraf sowohl die Schlafdauer, den prozentualen Anteil der Schlafphasen, die Rhythmik des Schlafprofils und die Periodenlängen der Schlafzyklen.

Hierauf folgten dann Untersuchungen zur Wirkung von Substanz P an Patienten. Untersuchungen mittels RIA hatten gezeigt, dass bei Patienten mit Schlafstörungen deutlich niedrigere SPLIR-Werte in der Schlafperiode vorliegen (35). Die für Untersuchungen an Probanden nötigen präklinischen pharmakologisch-toxikologischen Untersuchungen wurden im Partnerinstitut des AIK „Arzneimittelforschung“ dem Institut für pharmakologische Forschungen im Kombinat Germed (IPhF) durchgeführt. Umfangreiche chemische und biopharmazeutische Arbeiten stammten aus dem IWF. Die im Schlaflabor von Karl Hecht durchgeführten klinischen Untersuchungen mit nasaler SP-Applikation konnten erfolgreich bis zur Stufe II geführt werden. Der Abbruch erfolgte 1990/91.

Als weiteres mögliches klinisches Einsatzfeld interessierte die **Hypertonie**. Dafür sprachen nicht nur die erwähnten tierexperimentellen Untersuchungen zur Wirkung von SP und Fragmenten auf den stressbedingten von Hochdruck, sondern auch umfangreiche tierexperimentelle Arbeiten mit Ratten mit genetisch fixierter spontaner Hypertonie sog. SHR. Bei diesen Arbeiten hatte sich gezeigt, dass die SPLIR im Plasma und im der Nebenniere bei SHR signifikant niedriger ist als bei WKY-Kontrollratten und bei den SHR unter zusätzlicher Stressbelastung weiter absinkt (36-39). In Zusammenarbeit mit dem Zentralinstitut für Herz-Kreislauf-Regulationsforschung der AdW wurde außerdem gefunden, dass SP bei der stressinduzierten Hypertonie von Primaten eine hypotensive Langzeitwirkung ausübt (40). Deshalb wurde gemeinsam mit Hans-Dieter Faulhaber vom gleichen Institut die Substanz-P-like-immunoreactivity (SPLIR) im Plasma von Hypertonikern untersucht und gezeigt, dass diese deutlich erniedrigt ist (41). Dieser interessante Ansatz für mögliche klinische Untersuchungen konnte nach 1990/91 nicht begonnen werden.

Als drittes mögliches klinisches Nutzungsfeld für SP interessierte die **bronchiale Hyperreaktivität und das Asthma bronchiale**. Bekannt war, dass Substanz P ein potenter

Bronchokonstriktor ist, Schleimhautödeme induziert und die tracheobronchialen Drüsen stimuliert. Alles in enger Beziehung zu der von uns untersuchten und vorangehend erwähnten SP-Wirkung auf die Histaminfreisetzung aus Mastzellen. Begonnen wurde deshalb unter der bereits erwähnten Karen Nieber in den 80er Jahren eine Zusammenarbeit des IWF mit dem Forschungsinstitut für Lungenkrankheiten und Tuberkulose (FLT) in Berlin-Buch, unter Leitung von Walter Schilling. Diese mündete in der Bildung einer gemeinsamen Forschungsgruppe FLT-IWF. Aus der Zusammenarbeit resultierten eine Reihe von Veröffentlichungen (42-44), welche die Rolle von Substanz P im Bronchialbaum und eine proasthmatische Funktion wahrscheinlich machten. Für das N-terminale Fragment SP₁₋₄ wurde nachgewiesen, dass es die Reagibilität der isolierten Meerschweinchentrachea auf exogen appliziertes Azetylcholin inhibiert. Die experimentelle bronchoalveoläre Lavage von Meerschweinchen wurde als geeignet gefunden, um die intrabroncheale Freisetzung von Substanz P zu untersuchen (45). Auch diese Zusammenarbeit mit dem FLT konnte nach 1990/91 nicht weitergeführt werden.

Eine interessante Kooperationslinie wurde von Karl Hecht zu dem Moskauer Institut für mediko-biologische Probleme der **Raumfahrt** aufgebaut. Das betraf vor allem die Untersuchungen zum Einsatz von Substanz P in der Vorbereitungsphase für **Flüge von Primaten in Biosatelliten**.

Gemeinsam mit dem Moskauer Kooperationspartnern untersuchte die Gruppe von Karl Hecht - unter Beteiligung des IWF- die Wirkung von 4-wöchiger nasaler Substanz P-Gabe an Rhesusaffen in der Vorbereitungsphase der Biosatelliten Kosmos 1514 (1983), Kosmos 1667 (1985) und Kosmos 2229 (1992). Auch in diesem Einsatzfeld war Substanz P in der Lage die Stressresistenz zu erhöhen und Symptome der „Raumfahrerkrankheit“ zu unterdrücken. Eine mögliche Anwendung von SP für Kosmonauten wurde diskutiert, aber nicht realisiert.

7. Zum Stand der Substanz P Forschung und einige Gedanken zur weiteren Entwicklung

Die Substanz P-Arbeiten im IWF und im Institut für pathologische Physiologie sowie bei den meisten Kooperationspartnern wurden nach 1990/91 weitgehend eingestellt. Peter Oehme konnte mit seiner Forschungsgruppe „Adaptationspharmakologie“ im FMP dem Nachfolgeinstitut des IWF die Arbeiten zur Interaktion von Substanz P mit dem Katecholaminsystem bis zu seinem altersbedingten Ausscheiden fortsetzen. Die Ergebnisse wurden auf zahlreichen nationalen und internationalen Tagungen vorgestellt: U. a. 1997 auf

dem Substanz P-Symposium in Cairns (Australien) zu „Tachykinins in health an disease“. Dort gehörte der Erstautor mit dem befreundeten Bruce Livett zu den Organisatoren.

Seit dem Ausscheiden der beiden Autoren aus der aktiven Forschungsarbeit sind mehr als zwei Jahrzehnte vergangen. Das Bild zu Substanz P hat sich in dieser Zeit weiter vertieft und abgerundet. Für die Grundlagenforschung lässt sich zusammenfassend sagen, dass die Substanz P-Rezeptoren und deren Effektuierungsmechanismen weitgehend aufgeklärt sind. Auch die Lokalisierung von Substanz P ist im Detail bekannt. Zur Funktion von Substanz P existieren umfangreiche Untersuchungen.

Gefreut hat uns natürlich, dass die von uns bearbeitete Rolle von Substanz P im Stressgeschehen weiterhin ein wichtiges Arbeitsfeld ist. Hierzu heißt es in Wikipedia (46) mit Stand vom 07. November 2016 :

Substance P is a key first responder to most noxious extreme stimuli (stressors), i .e those with a potential to compromise biological integrity. SP is regarded as an immediate defense, defense, repair, survival system“.

Weiter heißt es: *„The failure of clinical proof of concept studies, designed to confirm various preclinical predictions of efficacy, is currently a source of frustration and confusion among biomedical researchers“.*

Der dort skizzierte gegenwärtige Stand ist in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen. Das betrifft sowohl die Aussage, dass SP ein erster „responder“ auf die meisten toxischen/extremen Stimuli (Stressoren) ist. Das gilt gleichermaßen für die weitere Aussage in Wikipedia, dass es das Ziel dieser SP-responder-Funktion ist, die biologische Integrität durch „defense“ und „repair“ zu gewährleisten. Das entspricht unseren Vorstellungen, dass es die Aufgabe der SP-Funktion ist, die Homöostase des biologischen Systems zu gewährleisten. Hieraus folgte ja unsere Definition von SP als ein „regulide“ – also ein regulatory peptide. Weitere Aussagen in Wikipedia, dass SP unter Stress einmalig oder wiederholt freigesetzt wird und dann entweder abgebaut oder aktiviert, deckt sich mit unseren Ergebnissen, dass nicht nur das SP-Gesamtmolekül, sondern auch SP-Teilsequenzen für das Wirkungsbild verantwortlich sind.

Damit hingen unsere Modellvorstellung zu einem dualen Effekt von Substanz P zusammen. Gemeinsam mit dem befreundeten Peptidchemiker John Stewart aus Denver/Colorado (30,

47) hatten wir deshalb auch eine Brücke zu dem chinesischen Yin-Yang-Prinzip in der chinesischen Medizin (und Philosophie) hergestellt.

Die Aussage in Wikipedia, dass die klinische Nutzung der SP-Ergebnisse weiterhin „*a source of frustration and confusion*“ ist, bedauern wir natürlich. Vielleicht können die in unseren Arbeiten vorhandenen Ansätze hierfür den einen oder anderen nützlichen Beitrag leisten.

Natürlich interessieren in der gegenwärtigen internationalen Substanz P-Forschung auch andere Gebiete. Intensiv werden zur Zeit Substanz P-Antagonisten untersucht. Das betrifft deren Anwendung für die Schmerztherapie, sowie bei Depressionen und Krebs.

Zur Beteiligung von Substanz P am Krebsgeschehen erscheinen zurzeit zahlreiche Arbeiten.

Das betrifft auch den Pankreaskrebs. Für diese Krebsart gibt es gegenwärtig kaum therapeutische (und diagnostische) Ansätze und seine Häufigkeit steigt. Die von verschiedenen Autoren beschriebene Beziehung zu Substanz P soll darin liegen, dass beim Pankreaskarzinom eine Überexprimierung von NK₁-Rezeptoren in den Pankreaszellen festzustellen ist. NK₁-Antagonisten sind hochwirksame Inhibitoren dieser Prozesse. Das System SP/NK₁-Rezeptor könnte deshalb ein interessantes Target für die Therapie des Pankreaskarzinoms werden. Auch die Ursachen der Überexprimierung der NK₁-Rezeptoren bei Pankreaskrebs (und Pankreatitis) werden untersucht. Eine Brücke zum Alkoholmissbrauch, Rauchen und weiteren Stressfaktoren werden gesehen.

Interessant erscheinen uns auch Befunde chinesischer Autoren. Eine chinesische Arbeit aus dem Jahre 2016 steht unter Überschrift „Using gelatine nanoparticel mediated intranasal delivery of neuropeptide Substance P to enhance neuro-recovery in hemiparkinson rats“ (48). Diese Arbeit ist für die Autoren zum einen deshalb interessant, weil von den chinesischen Autoren SP mittels Nanopartikeln SP über die Nasenschleimhaut in das Gehirn gebracht werden konnte. Also analog der von uns bei Patienten mit stressbedingten Schlafstörungen angewandten SP-Applikation mittels Nasenspray und Nasentropfen.

Die von den chinesischen Autoren mittels dieser Applikationstechnik an einem Rattenhemiparkinsonmodell (6-OHDA-Modell) erreichte Beschleunigung der Wiederherstellung (recovery) des zerstörten Hirngewebes bietet gleichfalls eine Brücke zu unseren Arbeiten. An isolierten PC12-Zellen aus Rattennebennierenphaeochromozytom konnten wir zeigen, dass SP die durch 6-OHDA ausgelöste Apoptose hemmt.

Weiterführend wäre zu untersuchen, ob die von uns beschriebene stimulierende Wirkung von N-terminalen SP-Teilsequenzen auf das Nervenfasernwachstum in der Gewebekultur auch an diesem tierexperimentellen Hemiparkinsonmodell nachweisbar ist?

Unter dem Strich ist die Substanz P-Forschung weiterhin in einer dynamischen Entwicklung (49). Das betrifft auch die genannte Brücke (46) zwischen Substanz P und Stressforschung: „**SP als key responder**“ für die verschiedenen Stressoren.

Hier sind für zukünftige Arbeiten neue Herausforderungen herangereift. Diese folgen u. E. aus den verschiedenen Umweltstressfaktoren und ihren Interaktionen. Sicher ein vielschichtiges Gebiet. Jedoch ein notwendiger Forschungsschwerpunkt.

Dabei ist stärker als bisher die zu erwartende Wissensanreicherung zu Wirk- und Funktionsmechanismen von SP in eine ganzheitliche Betrachtung einzuordnen.

Dann könnten hieraus gewichtige Impulse für eine präventiv orientierte Medizin folgen.

Verzeichnis der Literatur

1. Euler, U. S. v. and J. H. Gaddum (1931): An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J. Physiol. (London)*. 72, 74-87.
2. Chang, M. M. and S. E. Leeman (1970): Isolation of a sialogic peptide from bovine hypothalamic tissue and its characterization as Substance P. *J. Biol. Chem.* 245, 4784-4790.
3. Ersparmer, V. and Anastasi (1962): Structure and biological actions of Eledoisin the active endecapeptide of the posterior salivary gland of Eledone. *Experientia*, 18, 58-59.
4. Ackermann, E., P. Oehme und P. Lange (1963): Über einige zentralnervöse Eigenschaften der Hydrazinopeptide. *Acta biol. med. germ. Suppl.* II, 52-53.
5. Oehme, P., H. Rex und E. Ackermann (1964): Biochemische Untersuchungen zur Wirkungsweise einiger Hydrazinverbindungen. *Acta biol. med. germ.* 12, 234-252.
6. Oehme, P., J. Bergmann, M. Bienert, H. Hilse, L. Piesche, P. Minh Thu and E. Scheer (1977): Biological action of Substance P – its differentiation by affinity and intrinsic efficacy. In: *Substance P. Nobel Symposium 37*. Euler, U. S. v., B. Pernow (eds). 327-335. Raven Press New York.
7. Hecht, K., P. Oehme and M. Poppei (1979): Action of Substance P on neurotic-hypertensive rats. *Pharmazie* 34, 654-657.

8. Hecht, K., P. Oehme, I. A. Kolometsewa, I. Ljowschina, M. Poppei and M. G. Airapetanz (1980): Effect of a Substance P-analogue on chronic deprivation of sleep of wistar rat under stress. In: Neuropeptides and neural transmission. International brain research organization (IBRO) monograph series. C. A. Marsan und W. Z Traczyk (eds.) 159-164. Raven Press New York.
9. Oehme, P., H. Hilse, E. Morgenstern und E. Göres (1980): Does Substance P produce analgesia or hyperalgesia? *Science*. 208, 305-307.
10. Görne, R. C., E. Morgenstern, P. Oehme, M. Bienert und K. Neubert (1982): Wirkung von Substanz P und Substanz P-Fragmenten auf die Schmerzschwelle von Mäusen. *Pharmazie* 37, 299-300.
11. Oehme. P., K. Hecht, L. Piesche, H. Hilse, E. Morgenstern und M. Poppei (1980): Substance P as a modulator of physiological and pathological processes. In: *wie* 4. 73-84.
12. Lindner, G., G. Grosse, P. Oehme und K. D. Jentsch (1980): Beitrag zur Wirkung von Substanz P auf die Nervenfaserverregeneration in der Gewebekultur. *Z. mikrosk.-anatom. Forsch.* 94, 661-668.
13. Lindner, G., G. Grosse, P. Oehme und K. D. Jentsch (1982): Über die Wirkung von Substanz P (SP) und SP-Teilsequenzen auf das Nervenfaserverwachstum in der Gewebekultur. *Z. mikrosk.-anatom. Forsch.* 96, 643-655.
14. Siems, W.-E., N. W. Kommissarowa, O. A. Gomazkov, P. Oehme, K. D. Jentsch und A. M. Chernukh. (1983): Untersuchungen zum Einfluss von Substanz P und Teilsequenzen der Verbindung auf die Angiotensin I-Converting-Enzym-Aktivität. *Pharmazie*. 38, 256-257.
15. Foreman, J. C., C. C. Jordan, P. Oehme and H. Renner (1983): Structure-activity relationships for some Substance P-related peptides that cause wheal and flare reactions in human skin. *J. Physiol.* 335, 449-465.
16. Renner, H. und P. Oehme (1983): Histaminfreisetzung aus Mastzellen durch Substanz P. *Zbl. Pharm.* 122, 143.
17. C. C. Jordan and P. Oehme eds. (1985): Substance P – metabolism and biological actions. Taylor and Francis. London.
18. Oehme, P., K. Hecht, R. Rathsack, K. Nieber, R. C. Görne, I. Roske and H. Hilse (1985): Relationship between Substance P, stress and catecholamine metabolism. In: *wie* 13. 245.

19. Jentsch, K. D., P. Oehme, K. Hecht, I. Roske, W.-E. Siems, G. Heder, E. Wachtel and J. Drescher (1985): Biological actions of N-terminal Substance P (SP) sequences. In: *wie* 13. 246.
20. Hüller, H., E. Koplik, E. Wachtel, K. Hecht and P. Oehme (1985): The influence of delta-sleep-inducing peptide (DSIP) and Substance P (SP) on disturbed sleep in rats. In: *wie* 13. 250.
21. Görne, R. C., C. Pfister, R. Rathsack und P.Oehme (1984): Zur zellulären Verteilung von Substanz P im Nebennierenmark der Ratte. *Biomed. Biochim. Acta* 43, 135-137.
22. Nieber, K. and P. Oehme (1987): Effect of Substance P and the N-terminal analogue SP₁₋₄ on the pre- and postsynaptic transmitter release in rat adrenal gland slices. *Biomed. Biochim. Acta* 46, 103-109.
23. Minenko, A. and P. Oehme (1987). Substance P action on inositol phospholipide in rat adrenal medulla slices. *Biomed. Biochim. Acta* 46, 461-467.
24. Oehme, P., K. Hecht, H. D. Faulhaber, K. Nieber, I. Roske and R. Rathsack (1987): Relationship of Substance P to catecholamines, stress and hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 10 (Suppl. 12), 109-111.
25. Livett, B. G., V. Kozousek, F. Mizobe und D. M. Dean (1979): Substance P inhibits nicotinic activation of chromaffine cells. *Nature* 278, 256-257.
26. Cheung, N. S., P. Karlsson, P., J-X. Wang, M. Bienert, P. Oehme und B. C. Livett (1994): Functional studies with Substance P analogues: effects of N-terminal, C-terminal and C-terminus extended analogues of Substance P on nicotine-induced secretion and desensitization in cultured bovine adrenal chromaffine cells. *J. Neurochemistry.* 62, 2246-2263.
27. Krause, W. N. Michael, C. Lübke, B. C. Livett and P. Oehme (1997): Substance P and Epibatidine-evoked catecholamine release from fractionated chromaffine cells. *Europ. J. Pharmacol.* 328, 249-254.
28. Roske, I., R. Rathsack, P. Oehme and H. Hilse (1983): Influence of chronic immobilization on blood pressure and Substance P-like immunoreactivity in plasma and adrenals of wistar rats. *Pharmazie.* 38, 491.
29. Nieber, K., I. Roske and P. Oehme (1989): Stress-induced changes of the noradrenergic transmitter release in adrenals and the influence of Substance P. *Biomed. Biochim. Acta.* 48, 557-559.

30. Oehme, P. and W. A. Krivoy (1983): Substance P: a peptide with unusual features. TIPS, 4, 521-523.
31. Nieber, K. und P. Oehme (1981): "Gut dependence" auf Opiate bei Ratten mit spontaner Hypertonie. Pharmazie. 36, 515-516.
32. Nieber K. und P. Oehme (1982): Wirkungsunterschiede zwischen Substanz P und Substanz P-Heptapeptid, untersucht am Phänomen der „gut dependence“ bei Ratten. Pharmazie. 37, 368-369.
33. Coper, H. und P. Oehme (1991): Neue Chancen für einen Berliner Suchtforschungsverbund. Materialien zur Gesundheitsforschung, Schriftenreihe zum Programm der Bundesregierung Forschung und Entwicklung im Dienste der Gesundheit. 19, 175-182.
34. Wachtel, E., E. Koplik, I. A. Kolometseva, H.-U. Balzer, K. Hecht, P. Oehme und V. A. Ivanow. Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von DSIP und SP₁₋₁₁ auf stressinduzierte chronische Schlafstörungen der Ratte. Pharmazie. 42, 188-190.
35. Rathsack, R., A. M. Wein, K. Hecht und P. Oehme (1982): Das Verhalten der Substanz P-ähnlichen Immunoreaktivität (SPLIR) im Plasma schlafgestörter Patienten. Dt. Gesundh.-Wesen. 37, 563-565.
36. Rathsack, R., P. Oehme, I. Roske and H. Hilse (1983): Substance P-like immunoreactivity in plasma and adrenal medulla of rats with spontaneous hypertension and WKY rats under acute stress. Biomed. Biochim. Acta. 42, 955-958.
37. Roske, I., R. Rathsack, P. Oehme, H. Hilse und K. Hecht (1983): Blutdruckverhalten und "Substanz P-like immunoreactivity" (SPLIR) im Nebennierenmark und Plasma von normotonen Wistar Kyoto-Ratten (WKY) und spontan hypertensiven Ratten unterschiedlichen Alters unter akutem Stress. Pharmazie. 38, 885-8886.
38. Roske, I. and P. Oehme (1983): Action of Substance P on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats in dependence of age. Pharmazie. 38. 626-627.
39. H. Hilse, I. Roske, H. Buske, K. Hecht and P. Oehme (1987): Prenatal influence of Substance P on blood pressure and stress sensitivity of spontaneously rats. Pharmazie. 45, 533-534.
40. Stechmesser, J. G., V. G. Starzev, P. Oehme, St. Nitschkoff und A. Brattström (1988): Hypotensive Langzeitwirkung von Substanz P auf eine stressinduzierte Hypertonie bei Primaten. Biomed. Biochim. Acta. 47, 445-447.

41. H. D. Faulhaber, P. Oehme, R. Baumann, J. Enderlein, R. Rathsack, G. Rostock and E. Naumann (1987): Substance P in human essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 10 (Suppl. 12), 172-176.
42. Schreiber, J. G., G. Becher, J. Slapke, C. Engelmann, D. Liedtke, K. Nieber und P. Oehme (1987): Einfluss von Substanz P auf Denervierungseffekte beim allergischen Meerschweinchenasthma. *Pharmazie.* 42, 556-557.
43. Schreiber, J., G. Becher, J. Slapke, K. Nieber and P. Oehme (1988): Influence of Substance P on the bronchial reactivity of sensitized and nonsensitized guinea pigs in vivo. *Biomed. Biochim. Acta.* 47, 93-94.
44. Schreiber, J., J. Slapke, K. Nieber and P. Oehme (1988): Long-term effects of Substance P on the isolated guinea pig trachea. *Biomed. Biochim. Acta.* 47, 799-803.
45. Schreiber, G., G. Becher, J. Slapke, R. Rathsack and P. Oehme (1988): Experimental bronchoalveolar lavage in guinea pigs – a useful tool to investigate the intrabronchial release of Substance P: *Biomed. Biochim. Acta.* 47, 445-447.
46. Wikipedia zu Substance P. Stand: 07. November 2016, 09. ³⁶.
47. Stewart, J., and E. Hall (1983): The Ying-Yang of behaviour?. *Peptides (New York)* 512-516).
48. Zhao Y-Z, Jin R-R, Yang W, Xiang Q, Yu W-Z, Lin Q, et al. (2016): Using Gelatine Nanoparticle Mediated Intranasal Delivery of Neuropeptide Substance P to Enhance Neuro-Recovery in Hemiparkinsonian Rats. *PLoS ONE* 11(2): e0148848. doi:10.1371/journal.pone.0148848.
49. Ebner, K., Muigg, P., Singewald, G. und N. Singewald (2008): Substance P in stress and anxiety: NK 1-receptor antagonism interacts with key brain areas of the stress circuitry. *Ann. N. Y. Acad.*, 1144, 61-73.